家蚕蛹和成虫期 GOBP/PBP 亚家族基因簇基因定位与表达分析

张升祥[1,#], 张　瑶[1,#], 徐世清[2], 王更先[3], 胡增娟[4], 赵春晓[1], 崔为正[1,*]
(1. 山东农业大学林学院, 山东泰安 271018; 2. 苏州大学基础医学与生物科学学院, 江苏苏州 215123;
3. 邯郸学院生物科学系, 河北邯郸 056005; 4. 青岛市农业广播电视学校, 山东青岛 266071)

摘要: 昆虫的气味结合蛋白(odorant binding proteins, OBPs)在昆虫与外界环境化学信息交流过程中起着重要作用, 对昆虫觅食、求偶、繁殖具有重要意义。普通气味结合蛋白/性信息素结合蛋白(general odorant binding protein/pheromone binding protein, GOBP/PBP)是鳞翅目昆虫 OBP 家族的一个重要单系群。为进一步明确家蚕 *Bombyx mori* GOBP/PBP 基因的结构、表达及功能, 本研究利用染色体定位及半定量表达分析方法对其进行了分析。染色体定位分析显示, 这些基因以基因簇的形式存在于第 19 染色体的 nscaf3052 上, 基因结构相似, 转录方向一致, 表明这些基因可能由同源基因复制产生, 并具有类似功能。对家蚕蛹和成虫不同发育阶段的雌、雄虫多种组织中进行表达分析发现, 这些基因的表达在不同发育时期和不同组织间差异明显($P < 0.05$), 相对表达量均以触角中为最高, 其他非嗅觉组织中也多有表达, 性别间差异不大, 说明了该基因簇基因除了具有嗅觉相关的功能外, 很可能具有其他尚未被发现的功能。

关键词: 家蚕; 气味结合蛋白; PBP1-GOBP2 亚家族; 基因簇; 表达分析; 染色体定位
中图分类号: Q966　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2010)10-1069-08

Mapping and expression analysis of GOBP/PBP subfamily gene cluster during pupal and adult stages of the silkworm, *Bombyx mori*

ZHANG Sheng-Xiang[1,#], ZHANG Yao[1,#], XU Shi-Qing[2], WANG Geng-Xian[3], HU Zeng-Juan[4], ZHAO Chun-Xiao[1], CUI Wei-Zheng[1,*] (1. College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. College of Basic Medicine and Biological Sciences, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China; 3. Department of Biological Science, Handan College, Handan, Hebei 056005, China; 4. Qingdao Agricultural Broadcast and Television School, Qingdao, Shandong 266071, China)

Abstract: Odorant binding proteins (OBPs) in insects play a primordial role in foraging, courtshipping, multiplying, and chemical communication with the environments. General odorant binding protein/pheromone binding protein (GOBP/PBP) is an important monophyletic group of Lepidoptera OBP family. We analyzed the GOBP/PBP in the silkworm *Bombyx mori*, the model organism of Lepidoptera, using chromosome mapping and semi-quantitative RT-PCR for further understanding of the expression and function of GOBP/PBP. Chromosome mapping showed that these genes were organized in the nscaf3052 of chromosome 19 in the form of gene cluster, with similar gene structure and identical transcription direction, suggesting that they were originated from the duplication of homologous genes and probably possess functional similarity. Analysis of the expression profiles in different tissues of males and females during pupal and adult stages revealed that these genes possessed conspicuous temporal and spatial expression differences ($P < 0.05$), the highest relative expression level occurred in the antenna, and lower relative expression levels in other most non-olfactory tissues without significant sex differences. The results suggest that these genes may have other functions undiscovered besides olfactory-related function.

Key words: *Bombyx mori*; odorant binding protein (OBP); GOBP/PBP subfamily; gene cluster; expression analysis; chromosome mapping

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金
作者简介: 张升祥, 男, 1972 年生, 博士, 讲师, 主要从事家蚕遗传育种和分子生物学研究, E-mail: zsx@sdau.edu.cn
[#]同等贡献作者 Authors contributed equally to this work
[*]通讯作者 Corresponding author, E-mail: wzcui@163.com
收稿日期 Received: 2009-11-28; 接受日期 Accepted: 2009-09-09

昆虫的嗅觉系统高度灵敏，能准确感受外界环境中气味物质的细微变化(Pelosi and Maida, 1995)。气味结合蛋白(odorant binding proteins, OBPs)与挥发性的小分子气味物质发生生化反应是昆虫专一性地识别气味的第一步，对昆虫与外界信息交流具有重要意义。OBPs 在昆虫感受器内部的淋巴液中大量存在，它们与外界脂溶性气味物质结合，携带其穿过亲水性的血淋巴，激活嗅觉神经元末梢外膜上的气味受体，产生感受器电位，经过一系列级联反应，到达中枢神经系统(Leal *et al.*, 2005; Syed *et al.*, 2006)，从而引起相应的行为反应。

昆虫的 OBPs 依据其序列、结合的配基以及在雌、雄蛾触角不同感受器中表达模式的不同，通常被分成 3 类：性信息素结合蛋白(pheromone-binding protein, PBP)、普通气味结合蛋白(general odorant binding protein, GOBP)和触角结合蛋白(antennal-binding protein x, ABPx)。现已证实，鳞翅目昆虫的 PBPs 具有结合性信息素的能力(Steinbrecht, 1998; Maida *et al.*, 2005; Pelosi *et al.*, 2006)。PBP1 主要在雄蛾的触角或对信息素不灵敏的感受器中表达(Krieger *et al.*, 1996; Callahan *et al.*, 2000; Picimbon and Gadenne, 2002; Vogt *et al.*, 2002; Forstner *et al.*, 2006; 龚达平等, 2006)；家蚕 *Bombyx mori* 的 PBP2 和 PBP3 在雌、雄蛾间表达差异不大(龚达平等, 2006)，其表达范围较 PBP1 小(Forstner *et al.*, 2006; 龚达平等, 2006)。PBPs 在黄粉甲 *Tenebio moliter* 的雄性附腺和血淋巴中也有发现(Paesen and Happ, 1995)，甚至在多种昆虫的雌虫中也有表达(Callahan *et al.*, 2000)。特别是在鳞翅目夜蛾科中，雌、雄虫触角中 PBPs 的表达和性别完全不相关联(Györgyi *et al.*, 1988; Callahan *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2001)。但雌虫中 PBPs 的作用不详，极有可能和检测、回馈调控本身性信息素释放有关(Callahan *et al.*,2000)。GOBPs 通常在雌、雄蛾间表达稳定，能够更广泛地结合气味物质分子(如特异性较低的植物挥发物)(Krieger *et al.*, 1996; Vogt *et al.*, 1999, 2002)。最新的研究表明，家蚕 GOBP2 能够很好地区分和结合性信息素主要成分家蚕醇(bombykol)，说明其可能也和性信息素感受相关(Zhou *et al.*,2009)。

不同昆虫触角内 GOBP/PBP 的表达时期不同，烟草天蛾 *Manduca sexta* 的 PBPs 最初在羽化前开始合成；舞毒蛾 *Lymantria dispar* 的 PBPs 和 GOBPs 的合成约始于羽化前 3 d，在接下来的 2 d 内均有很高的浓度；棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 在触角发育过程中，PBP 大约在成虫羽化前4 d 开始表达，羽化前2 d 达到峰值，GOBP2 大约在成虫羽化前 3 d 开始表达，羽化前 1 d 达到峰值，在成虫羽化后的几天内，PBP 仍保持高水平的表达(王桂荣等, 2002)。

Vogt 等(2002)发现在烟草天蛾中 PBP1-GOBP2 亚家族以基因簇的形式存在。OBPs 基因的染色体分布绝非随机的，基因簇内基因间相似程度更高(Graham and Davies, 2002)。进化分析发现，昆虫 GOBP/PBP 组成的亚家族构成一个单系群，为鳞翅目昆虫特有，序列间的同源性在 32% ~ 57% 之间(Hekmat-Scafe *et al.*, 2002; 龚达平等, 2006)。

家蚕作为鳞翅目模式昆虫，普遍认为 GOBP/PBP 在触角中特异表达，但尚未对其开展染色体定位及基因转录的系统研究，为掌握其在家蚕不同发育阶段的基因转录特异性，进一步了解其功能，本实验对家蚕 GOBP/PBP 进行了染色体定位，分析了蛹和成虫期不同组织的转录谱，并测定了家蚕蛾的趋性反应，以期为深入研究其基因功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 GOBP/PBP 亚家族基因序列获取与染色体定位

家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因簇中包含 *gobp1* (GenBank 登录号: X94988)、*gobp2*(GenBank 登录号: X94989)、*pbp1*(GenBank 登录号: X94987)、*pbp2*(GenBank 登录号: AM403100)、*pbp3*(GenBank 登录号: AM403101)5 个基因，这些基因的核苷酸序列均来自美国国立生物技术信息中心 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)。利用西南大学家蚕基因组数据库(http://silkworm.swu.edu.cn/silkdb)中 SilkMap 程序和 NCBI 的基因组 BLAST 对该亚家族基因进行定位分析，其中 *pbp2* 基因参照 Forstner 等(2006)文献推导得到，并对定位结果也进行了相应的修正。

1.2 家蚕品种与组织选取

家蚕品种为基因组测序所用的大造品种。5 龄起蚕时选取发育一致的蚕单独饲养，结茧后继续选取发育一致的部分蚕茧，剖开蚕茧取蚕蛹于培养箱内 25℃保育。分别取羽化前 1 d 的雌、雄虫的触角、胸足、翅，雌、雄虫羽化当天的触角、去触角的头部、胸足、腹部体壁、外生殖器和脂肪体，以及雌、雄虫羽化前 5 d 的触角、羽化后 4 d 的触角，-80℃保存备用。

1.3　RNA 提取与 RT-PCR

用 RNAiso Reagent 总 RNA 抽提试剂盒(TaKaRa)按说明书提取 RNA。总 RNA 经电泳检测和浓度测定后，用 M-MLV 反转录酶(Ferments)反转录合成 cDNA 第 1 链，-20℃保存备用。PCR 引物用 Primer 5.0 设计，序列见表 1，由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

表 1　本研究所用引物

Table 1　Primers used in this study

基因 Gene	引物序列 Primer sequences (5′-3′)
Bmgobp1	F: TGTCTACGTCATGAAAGATGTCA R: CAGTCAAAACGACAACTAGTTT
Bmgobp2	F: GTCACTGCTCATTTCGGTAAG R: TTCTGGTGCTATGCCCTCT
Bmpbp1	F: GAGATGACGCTAACAGATGC R: CCGAGGGTCCAGATACAC
Bmpbp2	F: ATCCCGAGATGTGATGACTA R: TTTGCCACCTTCAGTGTTCT
Bmpbp3	F: CATCGCAACAGGTTTCATTC R: TACTCTGGAGCACTGGTCGT
Bmactin3	F: CCCCATCGAACACGGAATCG R: CGCTCGGCAGTGGTAGTGAA

PCR 反应体系为 25 μL: 10 × PCR reaction buffer 2.5 μL, $MgCl_2$ 1.5 mmol/L, dNTPs 0.2 mmol/L, 上下游引物各 0.2 μmol/L, cDNA 模板 1 μL, TaqE 1U。反应条件如下：94℃ 3 min, 94℃ 40 s, 55℃ 45 s, 72℃ 60 s, 不同循环数(依据基因的不同设定), 72℃ 10 min。PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳。PCR 反应重复 3 次以上。

1.4　基因表达水平分析

基因相对表达水平以其 PCR 产物电泳条带和 *actin3* PCR 产物电泳条带的积分光密度(integrated optical density, IOD)比值表示。IOD 使用 Tanon-2500 型凝胶成像系统(天能科技上海有限公司)分析得到。

1.5　数据统计与分析

计算不同基因与 *actin3* 的 IOD 比值，以平均值 ± 标准差表示，用 SAS 8.0 软件进行单因素方差分析。用 SAS LSD 进行 T 检验，$P<0.05$(差异显著)定为有统计学意义，$P<0.01$(差异极显著)定为高度统计学意义。

2　结果与分析

2.1　家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因簇基因在染色体上的定位与排布分析

家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因簇基因在染色体上的定位与排布结果见图 1。

由图 1 可见，该基因簇位于家蚕第 19 号染色体 nscaf3052 的 780 ~ 920 k 区域内，均为单拷贝，5 个基因顺序排列，转录方向一致；其中 *gob1* 和其他 4 个该亚族内成员相距较远，而 *gob2* 和 3 个 *pbp* 基因在 nscaf3052 的 899 ~ 918 k 区域内，排布更加密集；*gobp1* 基因相对跨度最大，第 2 个内含子明显较大，其余的 4 个相对跨度均较小；该亚家族基因均为 2 个内含子和 3 个外显子的结构，这些基因的 3 个外显子差别很小，其中第 2 个外显子长度完全相同；其中 PBPs 的排布情况和其在 NCBI 中的排布情况相同。

2.2　羽化前 1 d 家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因的表达分析

羽化前 1 d 家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因表达情况见图 2。

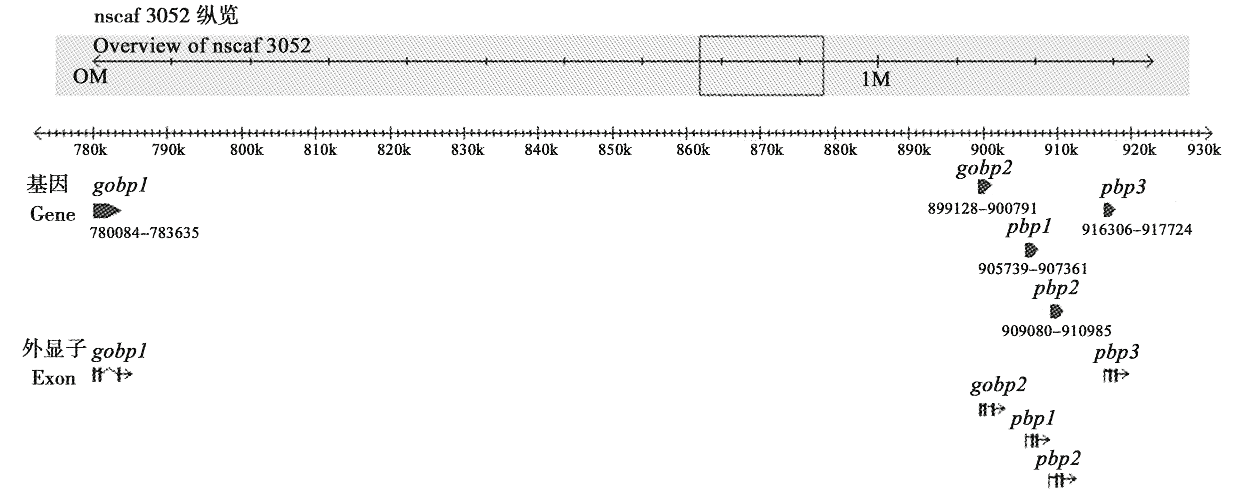


图 1　家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因簇基因在 nscaf3052 上排布

Fig. 1　Overview of GOBP/PBP subfamily gene cluster of *Bombyx mori* in the nscaf3052

箭头方向表示基因转录方向 Arrows represent the direction of gene transcription.

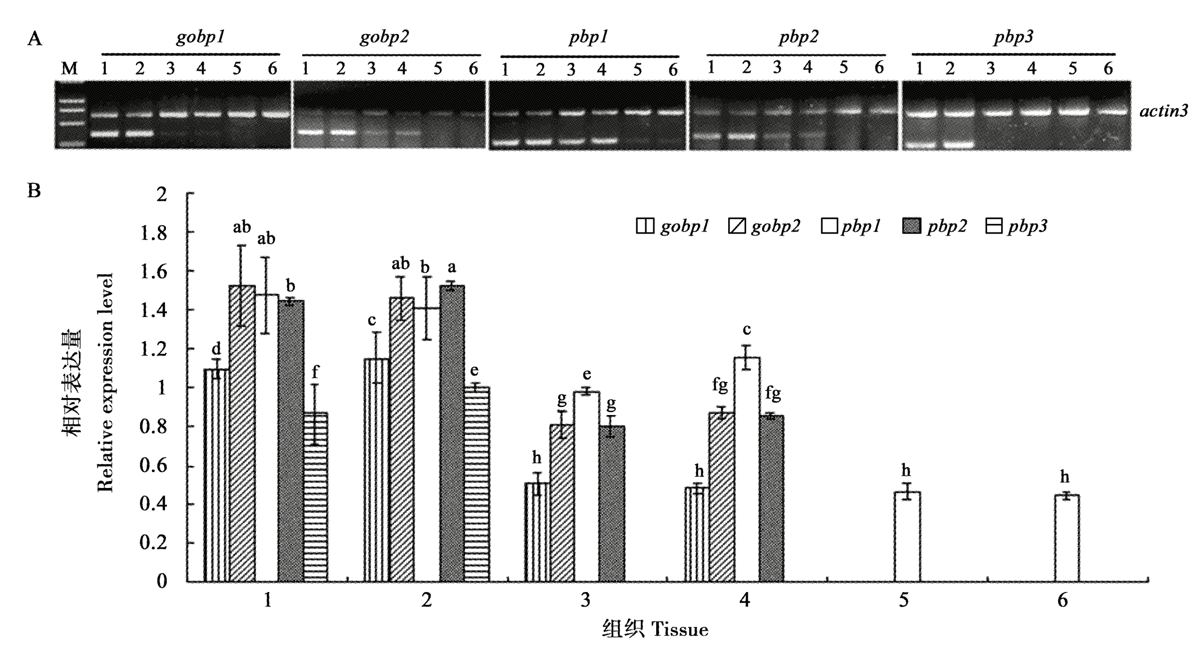


图 2 蛹期羽化前 1 d 家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因在不同组织的表达分析

Fig. 2 Expression analysis of GOBP/PBP subfamily genes in different tissues of *Bombyx mori* 1 d before adult eclosion

A：亚家族基因簇基因在不同组织间 RT-PCR 的电泳结果 RT-PCR results of subfamily cluster genes in different tissues；M：DL2000 marker；B：亚家族基因簇基因在不同组织间的相对表达量 Relative expression level of subfamily cluster genes in different tissues. 数据柱上不同小写字母表示相应基因表达水平差异显著($P<0.05$)。The different lowercase letters on the bar represent significant difference of the corresponding genes ($P<0.05$). 图 3 ~5 同 The same for Figs. 3 -5. 1：♂，触角 Male, antenna；2：♀，触角 Female, antenna；3：♂，胸足 Male, thoracic leg；4：♀，胸足 Female, thoracic leg；5：♂，翅 Male, wing；6：♀，翅 Female, wing.

在所检测的雌、雄蛹的 3 个不同组织中，GOBP/PBP 亚家族基因簇 5 个基因的相对表达量性别间的差异不大($P>0.05$)；同一基因在不同组织间的相对表达量差异显著，均以触角中为最高($P<0.01$)；同一组织中基因间的相对表达量也存在显著差异($P<0.05$)。其中，*gobp1* 和 *gobp2* 在胸足中表达量较低，翅中无表达；*pbp1* 在所检测的组织中均有表达，且触角、胸足和翅中均差异显著；*pbp2* 在胸足中表达量明显低于触角，而在翅中无表达；*pbp3* 仅在触角中表达。

2.3 羽化当天家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因的表达分析

家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因在羽化当天不同组织间的相对表达情况见图 3 和图 4。

家蚕羽化当天 *gobp1* 和 *pbp1* 在所检测的组织中均有表达，*gobp2* 只在触角和胸足中表达，3 个基因均以触角中相对表达量最高，雌、雄间差异不大($P>0.05$)(图 3)。

由图 4 可见，*pbp2* 基因在雌、雄蚕蛾的触角和胸足中有表达，组织间的相对表达量差异均达到极显著水平($P<0.01$)，而所检测的其他组织无表达；*pbp3* 只在雌、雄蛾触角和脂肪体中表达($P<0.01$)，其他组织无表达。

2.4 家蚕蛹和成虫不同时期触角中 GOBP/PBP 亚家族基因的表达分析

家蚕蛹和成虫不同时期触角中 GOBP/PBP 亚家族基因表达情况见图 5。

由图 5 可见，羽化前 5 d 的家蚕雌、雄虫中均检测到 *gobp1* 的表达，表达量在羽化前 1 d，达到较高水平，羽化当天达到最高，羽化后 4 d 仍然维持较高水平，性别间差别不显著($P>0.05$)，羽化前5 d 和羽化后存在极显著差异($P<0.01$)；*gobp2* 只是在羽化前 5 d 的雄虫触角中检测到表达，雌虫中没有检测到，而在羽化前 1 d 和羽化后的雌、雄蚕蛾中均检测到其表达，且表达量相对较高，羽化前1 d 和与羽化后 4 d 的相对表达量无显著差异($P>0.05$)；*pbp1* 在所有检测时期均有表达，羽化前 5 d 表达水平较低，和其他检测时期的相对表达量存在极显著差异($P<0.01$)，羽化前 1 d 和羽化当天水平为最高，羽化后 4 d 表达水平无明显下降；*pbp2* 在羽化前 1 d 达到较高表达量，羽化后 4 d 表达量同样较高($P<0.05$)；*pbp3* 在羽化前 1 d 达到较高的表达水平，而在羽化后 4 d 表达明显下降($P<0.01$)。

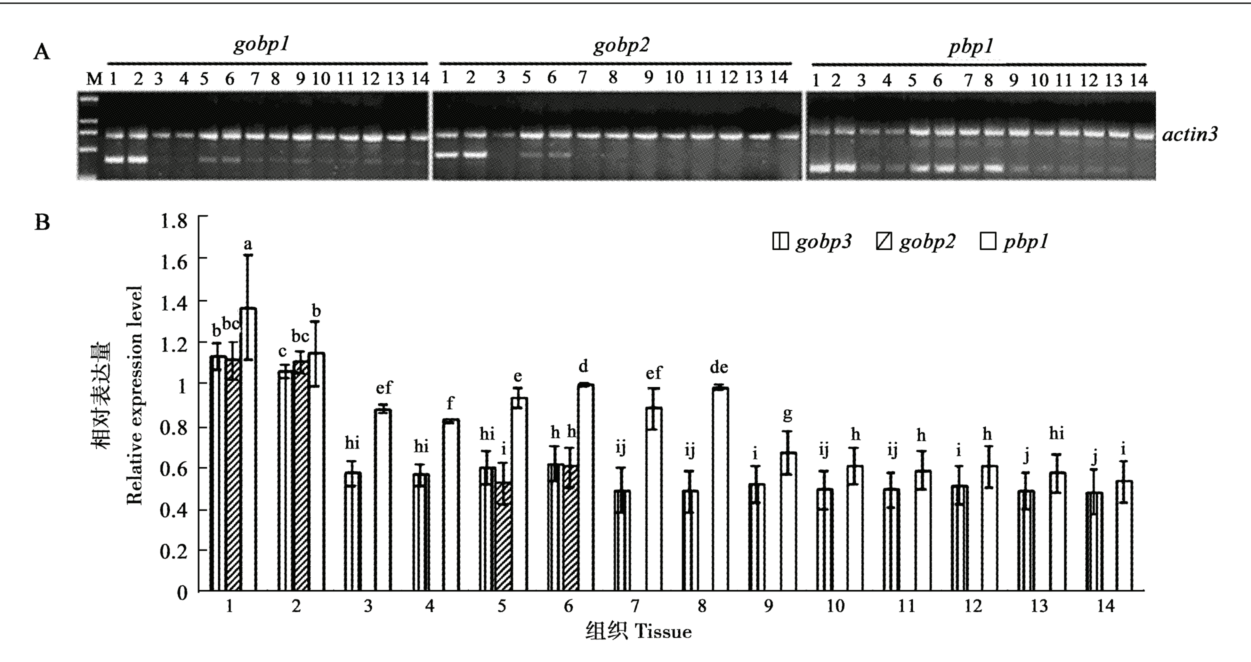


图 3　成虫期羽化当天家蚕 *gobp* 和 *pbp1* 基因在不同组织的表达分析

Fig. 3　Relative expression level of *gobp* and *pbp1* on the day of adult eclosion of *Bombyx mori*

1：♂，触角 Male, antenna; 2：♀，触角 Female, antenna; 3：♂，去触角头部 Male, head without antenna; 4：♀，去触角头部 Female, head without antenna; 5：♂，胸足 Male, thoracic leg; 6：♀，胸足 Female, thoracic leg; 7：♂，翅 Male, wing; 8：♀，翅 Female, wing; 9：♂，腹部体壁 Male, abdominal body wall; 10：♀，腹部体壁 Female, abdominal body wall; 11：♂，外生殖器 Male, external reproductive organ; 12：♀，外生殖器 Female, external reproductive organ; 13：♂，脂肪体 Male, fat body; 14：♀，脂肪体 Female, fat body.

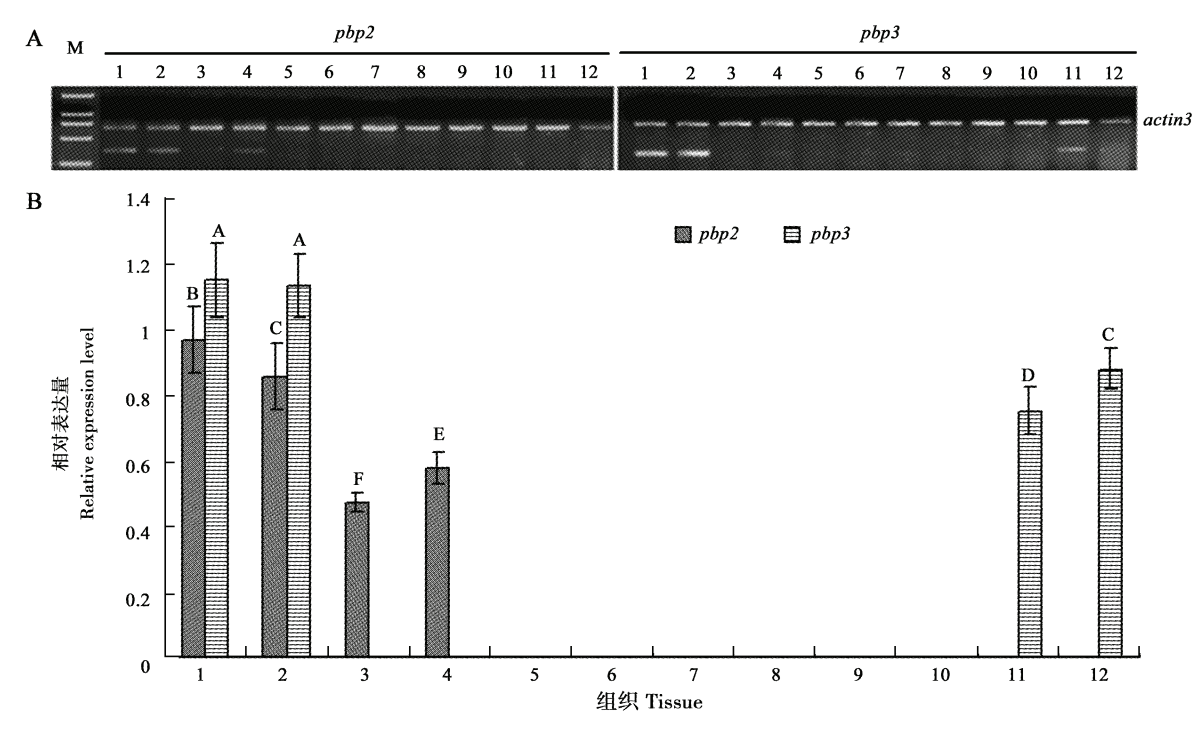


图 4　成虫期羽化当天家蚕 *pbp2* 和 *pbp3* 基因在不同组织的表达分析

Fig. 4　Relative expression level of *pbp2* and *pbp3* on the day of adult eclosion of *Bombyx mori*

1：♂，触角 Male, antenna; 2：♀，触角 Female, antenna; 3：♂，胸足 Male, thoracic leg; 4：♀，胸足 Female, thoracic leg; 5：♂，翅 Male, wing; 6：♀，翅 Female, wing; 7：♂，腹部体壁 Male, abdominal body wall; 8：♀，腹部体壁 Female, abdominal body wall; 9：♂，外生殖器 Male, external reproductive organ; 10：♀，外生殖器 Female, external reproductive organ; 11：♂，脂肪体 Male, fat body; 12：♀，脂肪体 Female, fat body. 柱上不同大写字母表示相应基因表达水平的差异显著性($P<0.01$)。The different capital letters on the bar represent significant difference of the corresponding genes ($P<0.01$).

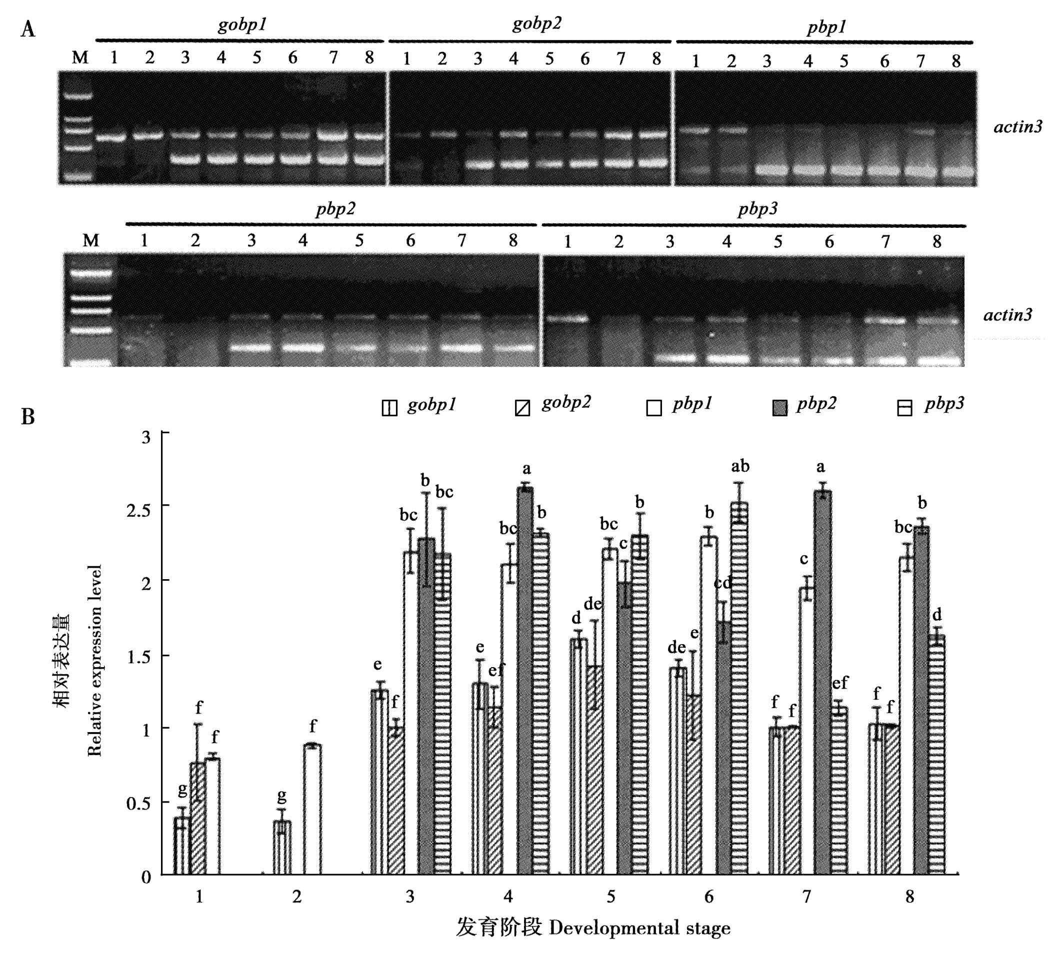


图 5　蛹和成虫不同时期家蚕触角中 GOBP/PBP 亚家族基因的表达分析

Fig. 5　Expression analysis of GOBP/PBP subfamily genes in the antenna of *Bombyx mori* at different pupal and adult stages

1：♂，羽化前 5 d（Male, 5 d before eclosion）；2：♀，羽化前 5 d（Female, 5 d before eclosion）；3：♂，羽化前 1 d（Male, 1 d before eclosion）；4：♀，羽化前 1 d（Female, 1 d before eclosion）；5：♂，羽化当天（Male, on the day of eclosion）；6：♀，羽化当天（Female, on the day of eclosion）；7：♂，羽化后 4 d（Male, 4 d after eclosion）；8：♀，羽化后 4 d（Female, 4 d after eclosion）

3　讨论

基因簇是基因家族在染色体的一种常见分布形式，基因家族内的基因常来源于共同的祖先。祖先基因经过一系列复杂的复制和分离事件后，在染色体的特定位置形成了基因簇（Hekmat-Scafe *et al.*, 2002）。Callahan 等（2000）认为，当前发现的昆虫触角 OBP 至少分为两大类，其中一类为相似性较高的蛋白如 PBP，GOBP，ABPx 和 OS-E（olfactory specific E）。烟草天蛾中 PBP1-GOBP2 基因毗邻，并以基因簇的形式存在于基因组中，均为 3 个外显子、2 个内含子的基因结构（Vogt *et al.*, 2002），与家蚕 GOBP/PBP 基因簇基因的排布方式和结构相同，表明了物种间这些基因的相似性非常高，可能和其保守的基因功能有关；果蝇中的多数 OBP 家族的基因均以基因簇的形式存在，2 个基因簇中还间杂气味受体基因（Hekmat-Scafe *et al.*, 2002），而家蚕 GOBP/PBP 基因簇中无其他基因夹杂其中（图 1），可能由这些基因的功能差异所致。在 NCBI 中对 GOBP/PBP 基因簇基因组定位发现它们均位于 scaf100 上，*gobp* 位于 contig35962 上，而 *pbp* 位于 contig35963 上，和西南大学家蚕基因组数据库定位结果一致（图略）。

OBPs 在昆虫生命周期特定时期、特异组织和个体中的表达情况主要由其功能决定。通过对家蚕不同组织和不同时期 GOBP/PBP 基因簇基因转录水平的分析发现，*pbp1* 在多数情况雄虫触角中表达量较高，但是和雌虫触角中的相对表达量没有达到显著差异水平，和前人研究结果不同（Krieger *et al.*, 1996；Forstner *et al.*, 2006；龚达平等，2006），反而和性别不相关联（Györgyi *et al.*, 1988；Callahan *et*

al., 2000; Zhang *et al*., 2001); Krieger 等(1996)没有在头和胸足检测到 *pbp1* 的表达，本实验却在所有时期和组织中都检测到 *pbp1* 的表达，只是组织间以触角中的表达量最高，和中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 中的情况类似(李红亮等，2008)；*pbp2* 和 *pbp3* 在触角中表达量最高，但 *pbp2* 在翅和胸足中也有表达，和棉铃虫的表达情况类似(张帅等，2009)，而且在脂肪体中也检测到 *pbp3* 表达；*gobp1* 在触角中表达量最高，其中羽化当天的所有组织中均有表达，只是表达量明显低于触角，和其他昆虫中的表达不同(金丰良等，2008；吴仲南等，2009)；*gobp2* 在触角中表达量同样最高，另外在胸足中也有表达，这一点其他昆虫中的研究结果不完全相同(王桂荣等，2001，2002；Jin *et al*., 2009)。从时间上来讲，这 5 个基因均在羽化前 1 d 和羽化后 1 – 4 d 内的触角中表达量较高，而在幼虫期未检测到其表达(图略)，表明它们在成虫期担负嗅觉等重要功能(Jin *et al*., 2009)。GOBP/PBP 亚家族基因的这种表达模式说明，*pbp1* 和 *gobp1* 基因在功能上可能较 *pbp2*，*pbp3* 和 *gobp2* 更为广泛、重要，而在非感受器官的表达则暗示它们可能具有其他未被发现的重要功能，这和化学感受蛋白(chemosensory proteins, CSPs)类似(Gong *et al*., 2007)。

现有研究发现，OBP-配基复合物可直接激活气味受体，而不是通过释放气味分子到气味受体上(Laughlin *et al*., 2008)，且家蚕的 PBP 在性信息素处理过程中可能起到过滤作用(Lautenschlager *et al*., 2007)，GOBP2 也能更好地结合性信息素主要成分——家蚕醇(Zhou *et al*., 2009)。这些结果似乎也说明了这一点。

此外，我们还参照张同心等(2005)的方法进行了蚕蛾趋性实验，结果表明，蚕蛾对幼虫期的忌避物(樟脑)和引诱物(桑叶)无趋避反应，但雄蛾对雌蛾的趋性完全不受忌避物的影响(未发表数据)。而普遍认为和昆虫感受植物源气味相关的 GOBPs 在家蚕幼虫期不表达，而在成虫期相对表达量很高，因此它们可能和家蚕对植物性气味的识别无关，而和感受性信息素刺激等功能相关，这和 Zhou 等(2009)的结果一致。

家蚕 GOBP/PBP 亚家族基因簇内的基因非常相似，可能源自于祖先基因的复制。这些基因在不同组织间的相对表达量均以触角为最高，说明它们可能和感受性信息素刺激相关，但其表达谱广泛，则暗示它们可能还具有其他尚未被发现的功能。深入开展这些基因新功能的研究，对于进一步阐明家蚕乃至昆虫的嗅觉分子机制具有重要意义。

参 考 文 献 (References)

Callahan FE, Vogt RG, Tucker ML, Dickens JC, Mattoo AK, 2000. High level expression of "male specific" pheromone binding proteins (PBPs) in the antennae of female noctuiid moths. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 30(6): 507 – 514.

Forstner M, Gohl T, Breer H, Krieger J, 2006. Candidate pheromone binding proteins of the silkmoth *Bombyx mori*. *Invert. Neurosci*., 6(4): 177 – 187.

Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, Lin Y, Xia QY, Xiang ZH, 2007. Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 37(3): 266 – 277.

Gong DP, Zhao P, Lin Y, Zhang HJ, Xia QY, Xiang ZH, 2006. Identification and expression pattern of two pheromone binding proteins in silkworm, *Bombyx mori*. *Acta Entomologica Sinica*, 49(3): 355 – 362. [龚达平，赵萍，林英，张辉洁，夏庆友，向仲怀，2006. 家蚕信息素结合蛋白 BmPBP2 和 BmPBP3 基因的初步鉴定及表达分析. 昆虫学报，49(3): 355 – 362]

Graham LA, Davies PL, 2002. The odorant-binding proteins of *Drosophila melanogaster*: annotation and characterization of a divergent gene family. *Gene*, 292: 43 – 55.

Györgyi TK, Roby-Shemkovitz AJ, Lerner MR, 1988. Characterization and cDNA cloning of the pheromone-binding protein from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*: a tissue-specific developmentally regulated protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85(24): 9851 – 9855.

Hekmat-Scafe DS, Scafe CR, McKinney AJ, Tanouye MA, 2002. Genome-wide analysis of the odorant-binding protein gene family in *Drosophila melanogaster*. *Genome Res*., 12(9): 1357 – 1369.

Jin F, Dong X, Xu X, Ren S, 2009. cDNA cloning and recombinant expression of the general odorant binding protein II from *Spodoptera litura*. *Sci. China C Life Sci*., 52(1): 80 – 87.

Jin FL, Dong XL, Xu XX, Ren SX, 2008. Cloning and expression in prokaryotic cells of cDNA of general odorant binding protein Ⅱ in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Sci. China C Life Sci*., 38(11): 1076 – 1083. [金丰良，董小林，许小霞，任顺祥，2008. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白Ⅱ cDNA 的克隆及在原核细胞中的表达. 中国科学 C 辑，38(11): 1076 – 1083]

Krieger J, von Nickisch-Rosenegk E, Mameli M, Pelosi P, Breer H, 1996. Binding proteins from the antennae of *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 26(3): 297 – 307.

Laughlin JD, Ha TS, Jones DN, Smith DP, 2008. Activation of pheromone-sensitive neurons is mediated by conformational activation of pheromone-binding protein. *Cell*, 133(7): 1255 – 1265.

Lautenschlager C, Leal WS, Clardy J, 2007. *Bombyx mori* pheromone-binding protein binding non-pheromone ligands: implications for pheromone recognition. *Structure*, 15(9): 1148 – 1154.

Leal WS, Chen AM, Ishida Y, Chiang VP, Erickson ML, Morgan TI,

Tsuruda JM, 2005. Kinetics and molecular properties of pheromone binding and release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(15): 5386 –5391.

Li HL, Gao QK, Cheng JA, 2008. Cloning and spatio-temporal expression of cDNA encoding pheromone binding protein ASP1 in *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 51(7): 689 –693. [李红亮, 高其康, 程家安, 2008. 中华蜜蜂信息素结合蛋白 ASP1 cDNA 的克隆及时空表达. 昆虫学报, 51(7): 689 –693]

Maida R, Mameli M, Müller B, Krieger J, Steinbrecht RA, 2005. The expression pattern of four odorant-binding proteins in male and female silk moths, *Bombyx mori*. *J. Neurocytol*., 34: 149 –163.

Paesen GC, Happ GM, 1995. The B proteins secreted by the tubular accessory sex glands of the male mealworm beetle, *Tenebrio molitor*, have sequence similarity to moth pheromone-binding proteins. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 25(3): 401-408.

Pelosi P, Maida R, 1995. Odorant-binding proteins in insects. *Comp. Biochem. Physiol*., 111B(3): 503 –514.

Pelosi P, Zhou JJ, Ban LP, Calvello M, 2006. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cell Mol. Life Sci*., 63(14): 1658 –1676.

Picimbon JF, Gadenne C, 2002. Evolution of noctuid pheromone binding proteins: identification of PBP in the black cutworm moth, *Agrotis ipsilon*. *Insect Biochem. Mol. Biol*., 32(8): 839 –846.

Steinbrecht RA, 1998. Odorant-binding proteins: expression and function. *Ann. N. Y. Acad. Sci*., 855: 323 –332.

Syed Z, Ishida Y, Taylor K, Kimbrell DA, Leal WS, 2006. Pheromone reception in fruit flies expressing a moth's odorant receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(44): 16538 –16543.

Vogt RG, Callahan FE, Rogers ME, Dickens JC, 1999. Odorant binding protein diversity and distribution among the insect orders, as indicated by LAP, an OBP-related protein of the true bug *Lygus lineolaris* (Hemiptera, Heteroptera). *Chem. Senses*, 24(5): 481 –495.

Vogt RG, Rogers ME, Franco MD, Sun M, 2002. A comparative study of odorant binding protein genes: differential expression of the PBP1-GOBP2 gene cluster in *Manduca sexta* (Lepidoptera) and the organization of OBP genes in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *J. Exp. Biol*., 205(6): 719 –744.

Wang GR, Guo YY, Wu KM, 2002. Expression and identification of general odorant binding protein Ⅱ from *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 45(3): 285 –289. [王桂荣, 郭予元, 吴孔明, 2002. 棉铃虫普通气味结合蛋白Ⅱ基因的表达及鉴定. 昆虫学报, 45(3): 285 –289]

Wang GR, Guo YY, Xu G, Wu KM, 2001. Cloning and sequencing of a gene encoding GOBP2 in the antenna of *Spodoptera exigua*. *Scientia Agricultura Sinica*, 34(6): 619 –625. [王桂荣, 郭予元, 徐广, 吴孔明, 2001. 甜菜夜蛾 GOBP2 基因的克隆及序列测定. 中国农业科学, 34(6): 619 –625]

Wu ZN, Du YJ, ZhuGe QC, 2009. Expression and localization analysis of general odorant binding protein 1 (GOBP1) gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 52(6): 610 –616. [吴仲南, 杜永均, 诸葛启钏, 2009. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白 GOBP1 基因的表达定位分析. 昆虫学报, 52(6): 610 –616]

Zhang S, Zhang YJ, Su HH, Gao XW, Guo YY, 2009. Cloning, expression and tissue-specific expression of cDNA encoding pheromone binding protein PBP2 in *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Scientia Agricultura Sinica*, 42(7): 2359 –2365. [张帅, 张永军, 苏宏华, 高希武, 郭予元, 2009. 棉铃虫信息素结合蛋白 2 cDNA 的克隆、表达与组织特异性表达. 中国农业科学, 42(7): 2359 –2365]

Zhang SG, Maida R, Steinbrecht RA, 2001. Immunolocalization of odorant-binding proteins in noctuid moths (Insecta, Lepidoptera). *Chem. Senses*, 26(7): 885 –896.

Zhang TX, Cui WZ, Sun XG, Zhang WG, Liang ZG, 2005. Electroantennogram responses of *Acantholyda posticalis* Matsumura to volatiles of different trees. *Acta Entomologica Sinica*, 48(4): 514 –517. [张同心, 崔为正, 孙绪艮, 张卫光, 梁中贵, 2005. 松阿扁叶蜂对不同树种挥发物的触角电位反应. 昆虫学报, 48(4): 514 –517]

Zhou JJ, Robertson G, He XL, Dufour S, Hooper AM, Pickett JA, Keep NH, Field LM, 2009. Characterisation of *Bombyx mori* odorant-binding proteins reveals that a general odorant-binding protein discriminates between sex pheromone components. *J. Mol. Biol*., 389(3): 529 –545.

(责任编辑: 赵利辉)